



¿Cómo
funciona?

El fascinante mundo del ARN interferente

The fascinating world of RNA interference

Resumen

Exploraremos el papel del ARN interferente (ARNi) descubierto en 1990 al intentar modificar el color de las flores de petunia, revelando su capacidad para regular genes. Su acción sobre el ARN mensajero se demostró en nematodos y dicho descubrimiento le valió a Fire y Mello el Premio Nobel en 2006. La pérdida del ARNi hace a los organismos susceptibles a virus, pero algunos aprovechan esto como arma competitiva. Este fenómeno, observado en levaduras y parásitos, destaca la complejidad de la regulación génica y abre puertas a aplicaciones médicas y biotecnológicas.

Palabras clave: ARN, Terapia Génica, Biología Molecular.

Summary

We will explore the role of RNA interference (RNAi) discovered in 1990 when trying to modify the color of petunia flowers, revealing its ability to regulate genes. Its action on messenger RNA was demonstrated in nematodes and this discovery earned Fire and Mello the Nobel Prize in 2006. The loss of RNAi makes organisms susceptible to viruses, but some take advantage of this as a competitive weapon. This phenomenon, observed in yeast and parasites, highlights the complexity of gene regulation and opens doors to medical and biotechnological applications.

Keywords: RNA, Gene Therapy, Molecular Biology.

Anahí Armas-Tizapantzi^{1*}
Alba Mónica Montiel-González²
Arturo Torres-Dosal¹

¹Departamento de Salud, El Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal, Chiapas, México.

²Centro de Investigación en Genética y Ambiente, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.

*Autor para la correspondencia:
anahi.armas@guest.ecosur.mx

■ Existe algo que todos los seres vivos compartamos, sin importar el tipo o complejidad del organismo? La respuesta es sí, todos los seres vivos poseemos ácidos nucleicos como el ADN (ácido desoxirribonucleico) y el ARN (ácido ribonucleico). Estas moléculas, junto con las proteínas son esenciales para todo ser vivo. El ADN se encuentra en el núcleo de nuestras células y contiene toda la información genética que necesitamos para vivir. Es como nuestro manual de instrucciones, conformado por secuencias de nucleótidos que se dividen en genes. Al conjunto de todo el ADN y genes que posee una célula se denomina genoma. Cada gen contiene la información para producir distintos tipos de ARN los cuales determinan las características y funciones particulares de un organismo. Para la realización de diversas funciones como mantener la integridad del genoma, regular la activación de determinados genes y proteger el ADN de la infección por virus, se requiere de la acción de un tipo particular de ARN, el ARN interferente (ARNi) [1].

Un poco de historia

El mecanismo del ARNi fue observado por primera vez en 1990, cuando un grupo de investigadores intentaba obtener un color púrpura intenso en las flores de petunia. En su afán por conseguirlo introdujeron una copia extra del gen responsable de esta coloración en las flores. Sorprendentemente, en lugar de obtener flores de color púrpura intenso obtuvieron flores blancas, con parches blancos o pálidas. La explicación a este fenómeno se desconocía en ese momento, pero era un hecho que la copia extra del gen responsable del color había incluso inactivado al propio gen de la planta, causando efectos opuestos a los esperados. A este proceso le llamaron co-supresión [2].

Sin embargo, ellos no fueron los únicos en observar algo similar, otro grupo de investigadores en 1992, realizaron pruebas en el hongo *Neurospora crassa*, un hongo de color blanquecino que llega a crecer sobre el pan y conforme avanza su desarrollo adquiere un color naranja. En estas pruebas, los resultados fueron semejantes a los obtenidos antes, ya que la introducción de un gen extra para la biosíntesis de carotenoides (pigmentos responsables del color naranja en *N. crassa*), resultó en la represión de la actividad del gen objetivo, produciendo hongos albinos que iban desde el blanco, amarillo pálido, amarillo oscuro y naranja. Este experimento indicaba que los genes habían sido suprimidos en diferentes grados. Al analizar los niveles de proteína, se observó que el hongo mutante producía menos proteínas que el hongo sin manipular. A este proceso ellos le denominaron *represión* [3].

Pero el experimento crucial lo realizaron los biólogos Andrew Fire y Craig C. Mello en 1998 (Figura 1), al analizar a *Caenorhabditis elegans*, unos diminutos gusanos transparentes de apenas 1mm de longitud, mejor conocidos como nemátodos, que viven y se mueven entre los granos de tierra de manera ondulatoria y producen hasta mil huevos al día. En este experimento, introdujeron un ARN monocatenario y un ARN bicatenario para el gen

implicado en la contracción muscular. Como resultado, observaron que la presencia de ARN bicatenario era más eficiente para producir dicha represión. Algunos de los gusanos afectados presentaban una mayor curvatura en sus movimientos, mientras que los más afectados presentaron grandes espasmos, defectos estructurales, incluso pérdida de la movilidad. Así mismo, se demostró que el efecto se mantenía en la descendencia de los gusanos (Figura 2). De esa manera, demostraron que existe una molécula de ARN que suprime la actividad de genes específicos y la denominaron ARN interferente (ARNi) [4]. Por este trabajo, los autores recibieron el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 2006.

Después de su descubrimiento, el mecanismo de acción del ARNi ha sido descrito casi en todos los organismos eucariotas y su estudio ha sido pieza clave para comprender su papel en la protección contra virus, su funcionamiento y sus posibles aplicaciones en la regulación de la actividad de los genes. El ARNi, es un tipo especial de ARN que permite el silenciamiento génico, lo que significa que puede interferir selectivamente en la actividad de genes específicos (Figura 2). Esta característica permite a los investigadores estudiar la función de genes específicos y su implicación en procesos fisiológicos y patológicos, brindando nuevas posibilidades terapéuticas, como molécula para el silenciamiento de genes de origen viral o aquellos implicados en enfermedades, así como en la investigación de estas [5]. Además, en el campo de la biotecnología, el silenciamiento génico se ha utilizado para la sobreproducción de antibióticos, control de plagas fúngicas en plantas y como herramienta en la investigación de la genómica funcional usando hongos como modelos de producción de compuestos de interés humano [6]. En este entorno, se emplean diversas técnicas que implican la introducción de moléculas de ARN bicatenario diseñadas a medida, las cuales activan la maquinaria de silenciamiento para degradar secuencias de ARNm de genes objetivo, interrumpiendo así su actividad.

¿Todos los seres vivos contamos con este mecanismo de silenciamiento?

Diversos estudios coinciden en que este mecanismo de ARNi estuvo presente en el último ancestro común de todos los seres vivos que existen en la actualidad. Aunque no ha permanecido intacto. Se han identificado múltiples modificaciones de las proteínas clave de dicha maquinaria en eucariotas, de las cuales algunas han permitido conservar el mecanismo funcional y otras han provocado la desaparición del mecanismo [7].

¿Qué pasa con los que lo han perdido?

Se ha observado que la pérdida del ARNi provoca que los organismos se vuelvan “susceptibles” a adquirir y heredar material genético de virus, el cual está compuesto únicamente de ARN, incluso, investigaciones recientes reportan la presencia de ARN de doble cadena de origen viral en varios hongos que carecen del

mecanismo de ARN interferente. No obstante, esta “susceptibilidad” de adquirir un virus, en ciertos casos, puede convertirse en una ventaja sobre sus competidores biológicos [8].

El caso del hongo *Saccharomyces cerevisiae* es uno de los más estudiados. En él, se identificó la existencia de 4 tipos de virus, mismos que producen toxinas denominadas “M”, las cuales matan a las células de otras levaduras que son sensibles a sus toxinas. Estos tipos de virus cuentan con distintas estrategias, una de ellas consiste en que la toxina entra en el núcleo de la célula y bloquea la construcción de ADN, causando la detención del ciclo celular e induciendo la muerte celular. Otra estrategia consiste en la unión de la toxina a la pared celular de las células, desencadenando una perturbación de la capacidad de auto-regulación de esta, lo que puede afectar su funcionamiento normal provocando cambios disfuncionales y daños irreversibles, incluyendo la muerte celular.

Las estrategias usadas por los otros dos tipos de virus son aún desconocidas [9]. De este modo, se conoce que los organismos que adquieren al virus denominado como “asesino”, lo usan como un mecanismo de competencia por la supervivencia contra los organismos de su entorno natural, el cual es considerado un constante campo de batalla, inhibiendo el crecimiento de competidores que son sensibles a la toxina. Existe la hipótesis de que estas circunstancias de competencia entre los organismos fueron las que provocaron la adaptación de las especies hacia la pérdida del ARNi [9].

Como segundo y último ejemplo tenemos al parásito *Leishmania major*, un protozoo flagelado causante de diversas afectaciones a la salud humana. La adquisición del virus asesino actúa modificando la respuesta del sistema inmune a la infección, promoviendo la dispersión del parásito y su persistencia, lo que conlleva a la diseminación de la enfermedad de Leishmaniasis. Es decir, los parásitos



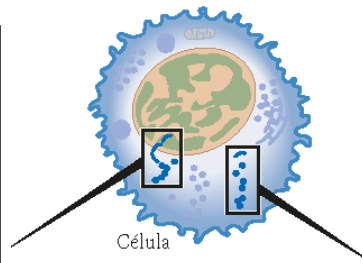
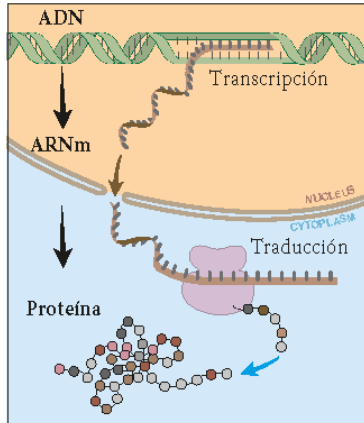
Figura 1. Craig C. Mello (izq) y Andrew Z. Fire, Nobel de Medicina 2006 (Foto: Arne Dedert).

ARN de interferencia

— silenciamiento génico mediante ARN

bicatenario

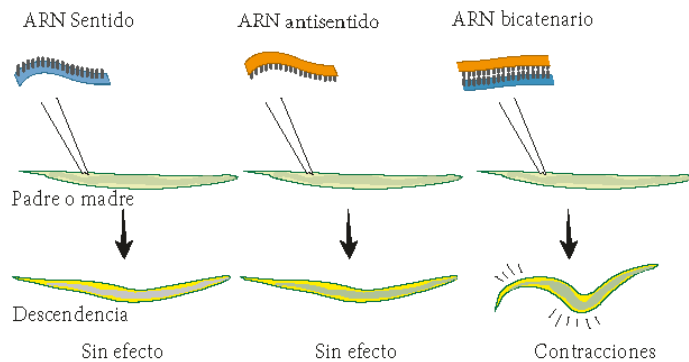
1. El Dogma central



Nuestro genoma opera enviando información desde el ADN bicatenario en el núcleo, a través de ARNm monocatenario, para guiar la síntesis de proteínas en el citoplasma.

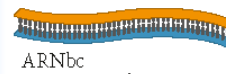
2. El experimento

Se inyecta ARN que contiene el código de una proteína muscular en el gusano *C. elegans*. El ARN monocatenario no tiene ningún efecto. Pero cuando se inyecta ARN de doble cadena, el gusano comienza a contraerse de manera similar a los gusanos que portan un gen defectuoso para la proteína muscular.

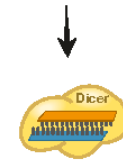


3. El Mecanismo de ARNi

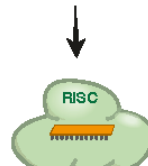
El ARN de interferencia (ARNi) es un mecanismo biológico importante en la regulación de la expresión génica.



El ARN bicatenario (ARNbc) se une a la proteína Dicer...



... que escinde el ARNbc en fragmentos más pequeños.



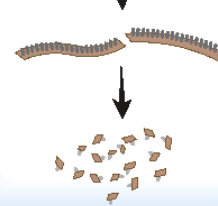
Una de las cadenas de ARN está cargada en un complejo RISC...



...y une el complejo a la cadena de ARNm mediante emparejamiento de bases.



El ARNm se escinde y destruye. No se puede sintetizar ninguna proteína.



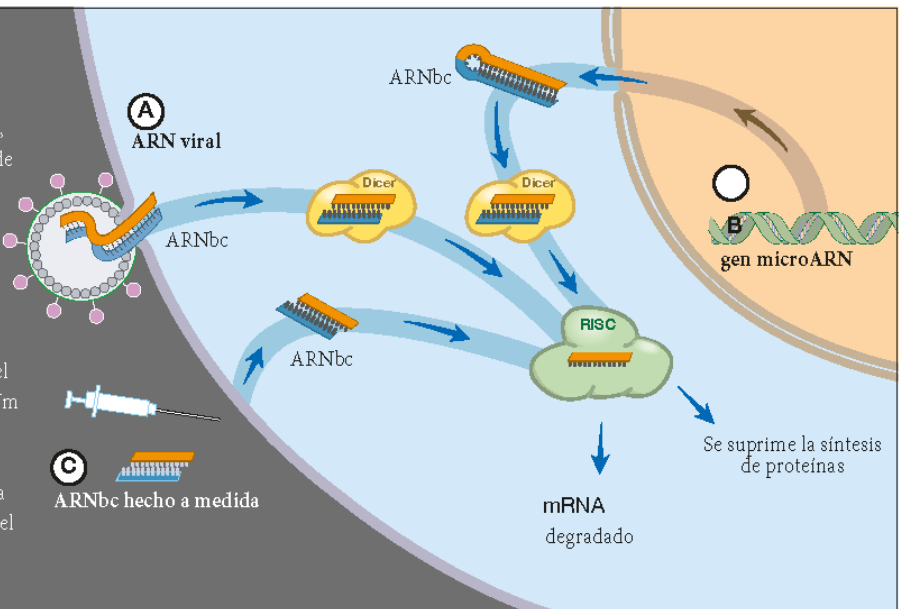
4. Varios procesos en la célula utilizan ARNi.

A. Cuando un virus de ARN infecta la célula, inyecta su genoma que consiste en ARN de doble cadena.

La interferencia de ARN destruye el ARN viral, impidiendo la formación de nuevos virus.

B. La síntesis de muchas proteínas está controlada por genes que codifican microARN. Después del procesamiento, el microARN impide la traducción del ARNm en proteína.

C. En el laboratorio de investigación, las moléculas de ARNbc se fabrican a medida para activar el complejo RISC y degradar el ARNm de un gen específico.



© The Nobel Committee for Physiology or Medicine Illustration: Annika Röhl

Figura 2. ARN de interferencia [4].

de Leishmania que albergan el virus con ARN de doble cadena, incrementan la severidad de la enfermedad. En este caso se denomina virus de ARN 1 (LRV1) y es un virus resistente al mecanismo de ARNi, es decir, aunque se restaure el mecanismo de silenciamiento el virus persiste, aunque a niveles reducidos. Sin embargo, estudios muy recientes, reportan que el restablecimiento del mecanismo de ARNi en estos parásitos puede contribuir, al menos a mitigar la respuesta inflamatoria [9] (Figura 3).

Aún hay mucho que estudiar respecto a las cuestiones de regulación génica en los organismos que perdieron este mecanismo de interferencia, con miras a utilizar el silenciamiento de genes de interés o bien de reestablecer el mecanismo para hacer susceptibles a organismos patógenos que afectan animales, plantas, incluso al humano, por mencionar una posible aplicación.

En definitiva, esta es un área de estudio que se encuentra en pleno apogeo, con la que se espera encontrar herramientas apropiadas para más aplicaciones biotecnológicas. Muestra de ello es el reciente uso de esta estrategia en un primer ensayo mundial realizado por investigadores de Reino Unido entre 2017 y 2020 para silenciar el gen de la proteína tau (τ) involucrada en el desarrollo precoz de Alzheimer. Los resultados preliminares en 46 pacientes del silenciamiento de tau ARNi para el tratamiento

de Alzheimer fueron positivos en la fase 1 del estudio en donde se observó una reducción superior al 50% de la proteína tau; en el estudio se menciona que los efectos secundarios fueron leves o moderados [10]. En caso de tener éxito en las siguientes fases, las terapias con ARN interferente podrían convertirse en una nueva clase de medicamentos para silenciar genes implicados en enfermedades del sistema nervioso central en primera instancia. Después, ya se verá. **iBIO**

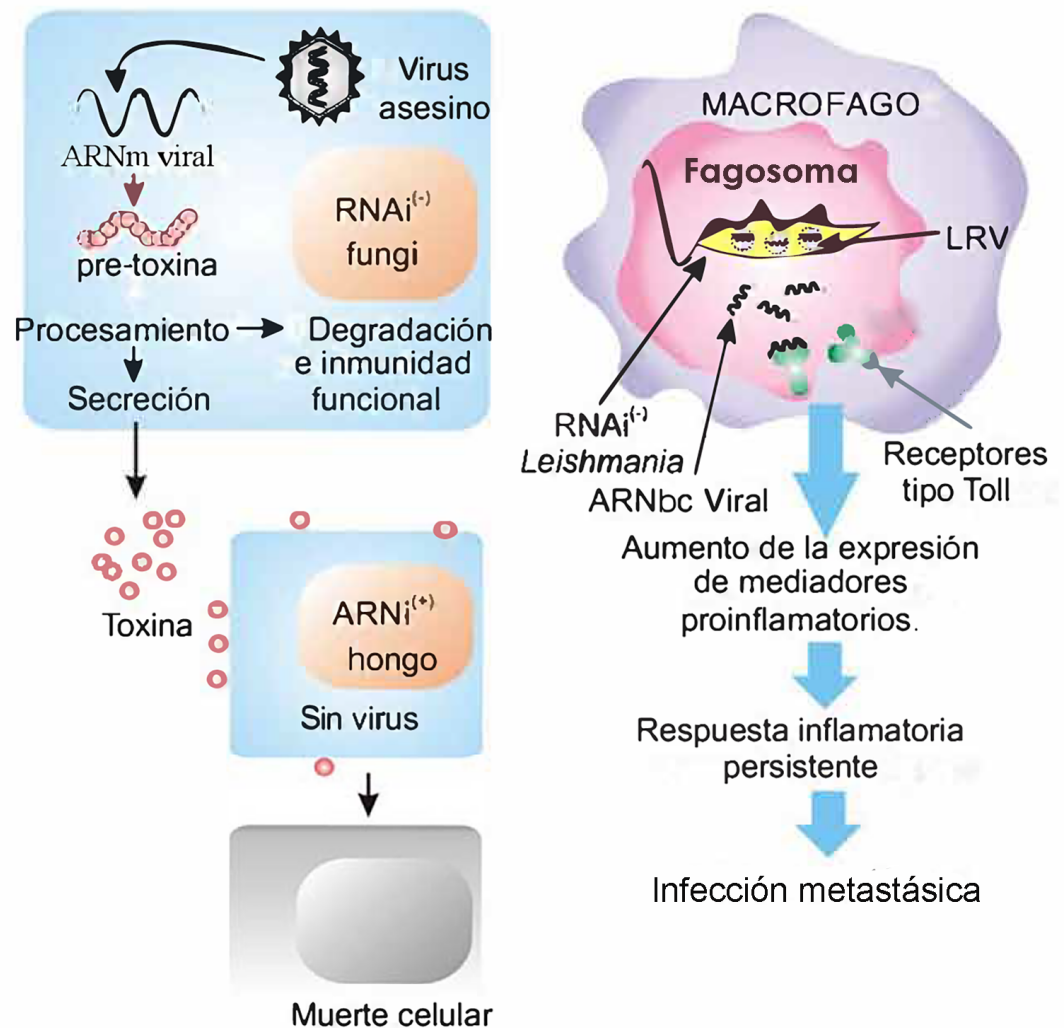


Figura 3. Ventajas de la pérdida del mecanismo del ARN interferente: A la izquierda en hongos y a la derecha en parásitos [9].

Referencias

- [1] Luque Cabrera J, Herráez Sánchez Á. (2002). *Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética: Conceptos técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud*. Harcourt, 469. <https://doi.org/10.1109/TENCON.2004.1414516>
- [2] Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. (1990). Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into Petunia Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *Plant Cell*, 2, 279–89. <https://doi.org/10.1105/tpc.2.4.279>
- [3] Romano N, Macino G. (1992). Quelling: Transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol Microbiol*, 6, 3343–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1992.tb02202.x>
- [4] Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391, 806–11. <https://doi.org/10.1038/35888>
- [5] Kim DH, Rossi JJ. (2007). Strategies for silencing human disease using RNA interference. *Nat Rev Genet*, 8, 173–84. <https://doi.org/10.1038/nrg2006>
- [6] Armas-Tizapantzi A, Montiel-González AM. (2016). RNAi silencing: A tool for functional genomics research on fungi. *Fungal Biol Rev*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.003>
- [7] Shabalina SA, Koonin E V. (2008). Origins and evolution of eukaryotic RNA interference. *Trends Ecol Evol*, 23, 578–87. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.06.005>
- [8] Segers GC, Zhang X, Deng F, Sun Q, Nuss DL. (2007). Evidence that RNA silencing functions as an antiviral defense mechanism in fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 12902–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702500104>
- [9] Nicolas FE, Torres-Martinez S, Ruiz-Vazquez RM. (2013). Loss and retention of RNA interference in fungi and parasites. *PLoS Pathog*, 9, e1003089. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003089>
- [10] Mummery CJ, Börjesson-Hanson A, Blackburn DJ, Vijverberg EGB, De Deyn PP, Ducharme S, et al. (2023). Tau-targeting antisense oligonucleotide MAPTRx in mild Alzheimer’s disease: a phase 1b, randomized, placebo-controlled trial. *Nat Med*, 29, 1437–47. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02326-3>

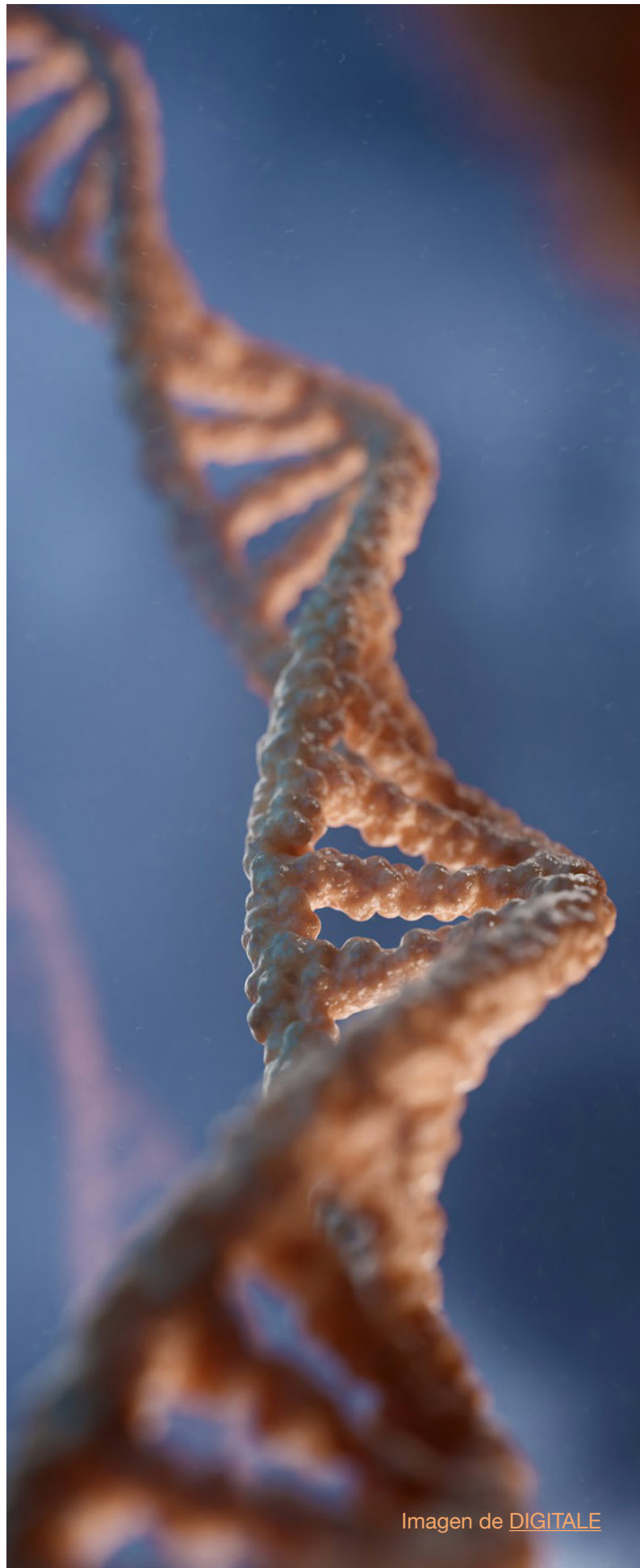


Imagen de DIGITALE